Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 4, Oct- Nov. 2022, p. 527- 541

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۴، مهر - آبان ۱۴۰۱ ص.۵۴۱-۵۲۷

Homepage: http://ifstrj.um.ac.ir
Full Research Paper

Preparation and evaluation some properties of pH indicator film based on Arabic gum- Carboxy methyl cellulose composite film containing of Violet basil (*Ocimum basilicum*. L) Anthocyanin

Amir Rezaei[1], Masoud Rezaei*[1], Mehdi Alboofetileh[2]

Received: 2021.04.05
Revised: 2021.06.26
Accepted: 2021.07.25
Available Online: 2023.01.04

How to cite this article:
Rezaei, A., Rezaei, M., Alboofetileh, M. (2022). Preparation and evaluation some properties of pH indicator film based on Arabic gum- Carboxy methyl cellulose composite film containing of Violet basil (*Ocimum basilicum*. L) Anthocyanin. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. *18* (4), 527-541.

Abstract

Introduction: Nowadays, pH indicator has engrossed wide attention because of its eligibility to monitoring shelf life. Intelligent packaging is authoritative of detecting, sensing, tracing, recording and communicating properties to provide information is communicated directly through color changes. In the meantime, natural anthocyanins are non-toxic, water-soluble and safe dye that are indicator to pH change. Anthocyanins are a large group of natural dyes. Some natural anthocyanin, such as anthocyanin extracted from mulberry, black bean, blueberry and violet basil (*Ocimum basilicum*) are used to spoilage monitoring. In present study, an intelligent pH-indicator film based on Arabic gum- Carboxymethyl cellulose incorporated with Violet basil (*Ocimum basilicum. L*) Anthocyanin was prepared and its properties including structural, physical, mechanical, thermal, antioxidant activity and color sensitivity to changing pH and ammonia gas were evaluated.

Materials and methods: For this purpose, at first anthocyanin of Violet basil was extracted and its color reactions were investigated. In next step, the extracted anthocyanin was added to Arabic gum- Carboxymethyl cellulose at different concentrations (40, 60 and 80 mg/100 g film formation solution) and their properties were evaluated.

Results and discussion: The results of FTIR and XRD tests showed that the extracted anthocyanin was successfully dissolved in the composite film. Addition of anthocyanin to film matrix led to increasing the WVP and antioxidant activity and decreasing the water contact angle, elongation at break (EB) and thermal properties. The tensile strength value of the prepared films increased from 19 to 23.64 MPa with increasing anthocyanin content from 0 to 60 mg/100 g film solution; but, it decreased with further increase of the anthocyanin content. Exposing the indicator films to ammonia gas and different pHs led to changing the color changes from red to yellow. These color variations of films were consistent with the color changes of the anthocyanin solution. This result indicates that the films prepared sensitive to pH change, and observed different color in films as the solution is changed from acidic to alkaline because causes its structural changes. The structure of anthocyanin is yellow salt ions in acidic solutions, is converted to quinoidal in weak alkaline solutions, and becomes unstructured in high pH solutions.

In this study, pH indicator films were prepared based of Carboxymethyl cellulose and Arabic gum containing violet basil anthocyanin. The developed films are non-toxic and biodegradable and provide visible color response. Based on

1. Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
2. Iran Fish Processing Technology Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.
(*Corresponding Author Email: rezaie_ma@modares.ac.ir)
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2021.69500.1030

these results can be concluded that the indicator film prepared in present study could be used as intelligent food packaging for visual evolution of freshness/spoilage in food products.

Keywords: Arabic gum, Carboxy methyl cellulose, pH indicator film, Violet basil anthocyanin.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 4, Oct- Nov. 2022, p. 527- 541

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۴، مهر- آبان ۱۴۰۱ ص.۵۴۱-۵۲۷

مقاله علمی-پژوهشی

تهیه و ارزیابی ویژگی‌های شناساگر حساس به pH بر پایه فیلم کامپوزیتی صمغ عربی-کربوکسی متیل سلولز حاوی آنتوسیانین ریحان بنفش (*Ocimum basilicum*. L)

امیر رضائی[1]- مسعود رضائی[2]*- مهدی آل بوفتیله[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۱۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۴/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۰۳

چکیده

در این تحقیق، بسته‌بندی هوشمند حساس به pH بر پایه فیلم کامپوزیتی صمغ عربی- کربوکسی متیل سلولز حاوی آنتوسیانین ریحان بنفش (*Ocimum basilicum. L*) تهیه شد و ویژگی‌های ساختاری، فیزیکی، مکانیکی، حرارتی، آنتی‌اکسیدانی و حساسیت رنگی نسبت به pHهای مختلف و گاز آمونیاک مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور ابتدا آنتوسیانین‌های ریحان بنفش استخراج و حساسیت رنگی آن‌ها سنجش گردید. در مرحله بعد آنتوسیانین‌های استخراج شده در سه غلظت ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر به ماتریس پلیمری فیلم کامپوزیت صمغ عربی- کربوکسی متیل سلولز اضافه و ویژگی‌های مختلف آن ارزیابی گردید. نتایج آزمون‌های FTIR و XRD نشان داد که آنتوسیانین استخراج شده به‌خوبی در ساختار فیلم کامپوزیتی صمغ عربی- کربوکسی متیل سلولز قرار گرفته است. اضافه شدن آنتوسیانین به ماتریس پلیمری سبب افزایش نفوذپذیری به بخار آب ($4/73\ g\ pas^{-1}\ m^{-1}\ s^{-1}$) و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین کاهش زاویه تماس (۵۵/۳۳ درجه)، کشش‌پذیری (۱/۵۶٪) و دمای انتقال ذوب گردید. مقاومت کششی فیلم‌های تهیه شده با افزایش میزان آنتوسیانین (صفر تا ۶۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم محلول فیلم) از میزان ۱۹ تا ۲۳/۶۴ مگاپاسکال افزایش یافت اما با افزایش بیشتر میزان آنتوسیانین، کاهش یافت. قرار گرفتن فیلم شناساگر تهیه شده در معرض گاز آمونیاک و pHهای مختلف، منجر به تغییر رنگ فیلم‌ها از رنگ قرمز به رنگ زرد گردید. این تغییرات رنگی فیلم‌ها با تغییرات رنگی محلول آنتوسیانین همخوانی داشت. براساس این نتایج می‌توان اظهار داشت که فیلم شناساگر تهیه شده در این پژوهش می‌تواند به‌عنوان بسته‌بندی هوشمند جهت ارزیابی چشمی تازگی و فساد در محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، ریحان بنفش، صمغ عربی، فیلم حساس به pH، کربوکسی متیل سلولز.

مقدمه

در سال‌های اخیر، توسعه بسته‌بندی‌های هوشمند با هدف ارزیابی فساد محصولات غذایی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در واقع، هدف از این نوع بسته‌بندی‌ها، دستیابی به اطلاعاتی در رابطه با ایمنی و تازگی محصول غذایی می‌باشد (Pereira and Arruda, 2015; Suppakul., 2014). بسته‌بندی‌های هوشمند به‌واسطه بهره‌گیری از تغییرات ظاهری اجزایی مثل شناساگرهای زمان- دما، شناساگرهای گازی و زیست‌حسگرها، اطلاعاتی را در رابطه با میزان تازگی و یا تغییرات نامطلوب ناشی از فساد محصول غذایی به نمایش می‌گذارند.

یکی از روش‌های ساخت بسته‌بندی هوشمند استفاده از شناساگرها می-باشد. در این رابطه شناساگرهای حساس به pH به‌واسطه کارکرد مناسب و کاربرد ساده خود می‌توانند میزان فساد و یا حتی تازگی محصول بسته‌بندی شده را به نمایش بگذارند (Zhang et al., 2014; Ma and Wang, 2016). از آنجایی که فساد اغلب مواد غذایی با تغییرات pH همراه است (Chun et al., 2014)، لذا تاکنون شناساگرهای مختلفی با استفاده از رنگ‌های شیمیایی تهیه شده است (Kuswandi et al., 2012). اما در سال‌های اخیر تقاضا برای کاهش استفاده از ترکیبات شیمیایی مصنوعی به دلیل امکان ایجاد اثرات سوء بر سلامت انسان رو به افزایش می‌باشد (Zhang et al., 2014).

۱- دانشجوی دکتری، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس ، نور، ایران.
۲- استاد، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس ، نور، ایران.
۳- استادیار، مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران.
* - نویسنده مسئول: Email: rezaie_ma@modares.ac.ir
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2021.69500.1030

پتانسیل استفاده از رنگ‌های طبیعی برای سنجش فساد در سیستم‌های بسته‌بندی هوشمند به دلیل عدم ایجاد آلودگی‌های زیستی و عدم سمیت برای انسان در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (Yoshida et al., 2014; Zhang et al., 2014). در میان رنگ‌های طبیعی گیاهان مثل آنتوسیانین‌ها با دارا بودن ویژگی‌هایی نظیر حساسیت رنگی به pHهای مختلف، توجهات را به‌خود جلب کرده‌اند. آنتوسیانین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند که به‌عنوان دارو در بسیاری از کشورها پذیرفته شده‌اند. این ترکیبات در میوه‌ها و سبزی‌ها وجود دارند. این رنگدانه‌ها با ممانعت در برابر اکسیداسیون چربی‌ها ارزش غذایی محصول را حفظ کرده و در صنایع مختلف دیگر نیز کاربردهای گسترده‌ای دارند (Close et al., 2003).

ریحان بنفش (*Ocimum basilicum. L*) گیاهی دارویی و معطر است که به لحاظ دارا بودن مقدار زیادی اسانس در اندام‌های رویشی، کاربردهای گسترده‌ای در درمان بسیاری از بیماری‌ها دارد. این گیاه حاوی رنگدانه‌های طبیعی از جمله آنتوسیانین می‌باشد که به‌واسطه دارا بودن این ترکیب، قابلیت تغییر رنگ در pHهای متفاوت را دارد (Tilebeni., 2011; Sajjadi., 2003). بر این اساس استخراج آنتوسیانین از گیاهان حاوی این رنگدانه و افزودن آن در بستر فیلم‌های زیستی می‌تواند به‌عنوان راهکاری برای تهیه شناساگرهای حساس به pH محسوب شود. پیشتر Zhang و همکاران (۲۰۱۴) آنتوسیانین استخراج شده از چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*) را در بستر فیلم کامپوزیت کیتوزان–نشاسته اضافه نمودند و دریافتند که با افزایش مدت زمان ماندگاری و افزایش pH رنگ شناساگرها از قرمز به زرد تغییر می‌کند (Zhang et al., 2014).

پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها از مهم‌ترین ترکیبات مورد استفاده در تهیه فیلم‌های زیستی هستند. در این رابطه می‌توان به کازئین، کلاژن، ژلاتین، سلولز، پکتین، دکسترین، نشاسته، نشاسته‌های اصلاح شده، کیتوزان، کاراژینان، آلژینات و صمغ‌ها اشاره کرد (Mariniello et al., 2003; Ojagh et al., 2010). کربوکسی متیل سلولز از مشتقات سلولز است که به دلیل قیمت ارزان، تشکیل فیلم‌های شفاف، خاصیت بازدارندگی نسبت به اکسیژن و چربی‌ها قابلیت استفاده در تهیه فیلم های زیست تخریب‌پذیر را دارد. صمغ‌ها نیز از سایر ترکیباتی هستند که در صنایع غذایی و تهیه فیلم‌ها به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعاتی در زمینه استفاده از صمغ عربی به‌عنوان ماده اولیه در تولید فیلم زیستی صورت گرفته است (Xu et al., 2019; Amalraj et al., 2020; Rezaei et al., 2019) که به‌منظور بهبود خواص آن‌ها در هر یک از مطالعات فیلم صمغ عربی به‌صورت ترکیبی با سایر پلیمرها تهیه شده است. در این مطالعه نیز از ترکیب صمغ عربی با کربوکسی متیل سلولز به‌عنوان روشی برای بهبود خواص فیلم‌های تهیه شده استفاده شد.

هدف از پژوهش حاضر تهیه فیلم شناساگر حساس به pH و ارزیابی ویژگی‌های مختلف ساختاری، فیزیکی، مکانیکی، حرارتی و آنتی اکسیدانی آن می‌باشد. بدین منظور ابتدا فیلم کامپوزیت از ترکیب صمغ عربی–کربوکسی متیل سلولز تهیه گردید. در ادامه آنتوسیانین استخراج شده از ریحان بنفش به‌منظور القای خاصیت شناساگری به بستر فیلم‌ها اضافه شد. در پایان نیز ویژگی‌های ساختاری، فیزیکی، مکانیکی، حرارتی، آنتی اکسیدانی، پاسخ رنگی در pHهای مختلف و همچنین حضور آمونیاک فیلم‌های تهیه شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

صمغ عربی و ریحان بنفش از بازارهای محلی تهیه گردید. کربوکسی متیل سلولز، گلیسرول، سود و اسید کلریدریک از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

استخراج آنتوسیانین

استخراج آنتوسیانین از ریحان بنفش (*Ocimum basilicum*) با استفاده از روش (Choi et al., 2017) انجام شد. بدین منظور ۱۰ گرم از پودر ریحان بنفش به ظرف حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۵ درصد اضافه شد. سپس عصارهگیری به مدت ۲ ساعت و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت. فاز مایع عصاره‌ها با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) جدا شده و در ادامه توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید. عصاره تغلیظ شده توسط دستگاه فریزدرایر خشک شده و تا استفاده بعدی در فریزر در دمای ۱۸– درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تغییرات رنگی محلول آنتوسیانین نسبت به pH

پودر خشک آنتوسیانین استخراج شده به میزان ۵ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه به آرامی توسط همزن مغناطیسی حل شد و به نسبت ۱:۱ به محلول‌های pH اضافه شد. در مرحله بعد تغییرات رنگی ایجاد شده در محلول‌هایی با pH ۲ تا ۱۳ که توسط اسید کلریدریک (HCL) و سود (NaOH) تهیه شده بودند؛ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفتند. عکس برداری از تغییرات رنگی ایجاد شده در محلول‌ها نیز انجام شد (Choi et al., 2017).

تهیه فیلم‌های شناساگر حساس به pH

برای تهیه فیلم‌های شناساگر، محلول‌های صمغ عربی و کربوکسی متیل سلولز با نسبت یک درصد در آب مقطر تهیه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد توسط همزن مغناطیسی همزده شدند. به منظور افزایش انعطاف‌پذیری فیلم‌ها گلیسرول (۰/۳ گرم به یک گرم پلیمر) به محلول‌های پلیمری اضافه گردید. با توجه به نتایج پژوهش های پیشین برای تهیه فیلم‌های کامپوزیتی، محلول فیلم صمغ عربی و کربوکسی متیل سلولز تهیه شده با نسبت یک به یک به آرامی و در طی مدت زمان ۳۰ دقیقه مخلوط شدند. سپس، آنتوسیانین استخراج شده در سه غلظت ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر به محلول فیلم کامپوزیتی اضافه شد. در نهایت بعد از حباب زدایی توسط دستگاه وکیوم، محلول مورد نظر در پلیت‌های پلاستیکی به قطر ۸ سانتی‌متر ریخته شد و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. فیلم‌های شناساگر تهیه شده پس از جداسازی از پلیت‌ها تا استفاده‌های بعدی در کیسه‌های زیپ‌کیپ داخل دسیکاتور حاوی سیلیکاژل نگهداری شدند (Rezaei et al., 2019).

طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

آزمون FTIR نمونه‌های فیلم توسط دستگاه Shimadzu مدل 8400S ساخت کشور ژاپن و در گستره cm^{-1} ۴۰۰–۴۰۰۰ با تفکیک پذیری cm^{-1} ۴ انجام شد (Jiang et al., 2020).

پراش پرتو ایکس (XRD)

آزمون پراش پرتو ایکس فیلم‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه X'Pert MPD ساخت کشور هلند با پرتویی با طول موج ۱/۷۸۹۰۱ آنگستروم و با تیوب کبالت در زاویه ۸۰–۶= 2θ درجه، در دمای محیط و با سرعت یک درجه در دقیقه صورت پذیرفت (Rezaei et al., 2019).

گرماسنجی افتراقی (DSC)

به‌منظور بررسی رفتار گرمایی فیلم‌ها از دستگاه DSC ساخت شرکت Malvern مدل ZEN3600 کشور انگلستان استفاده شد. حدود ۱۵ میلی‌گرم از فیلم‌های مختلف در درون دستگاه قرار داده شده و از دمای ۳۰ تا ۳۶۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. در حین آزمایش تغییرات دمایی ثابت و برابر ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود.

نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

خاصیت نفوذپذیری نمونه‌ها نسبت به بخار آب طبق روش شماره E96 بررسی شد (ASTM, 2002). در این آزمایش از سلول‌های نفوذپذیری با ابعاد ۳ سانتی‌متر قطر داخلی و ۳/۵ سانتی‌متر ارتفاع داخلی که حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر بودند استفاده شد. فیلم‌ها بر سطح سلول‌های نفوذپذیری نصب گردید و در ادامه سل داخل دسیکاتور حاوی سیلیکاژل به مدت ۸ ساعت قرار داده شد (Jahit et al., 2016). طی این زمان، وزن سلول‌ها توسط ترازوی دیجیتال ۰/۰۰۰۱ به‌طور متداول و هر دوساعت یک بار اندازه‌گیری شد. نرخ انتقال بخار آب با استفاده از رابطه ۱ اندازه‌گیری شد.

نرخ انتقال بخار آب =(شیب خطی)/(سطح سلول) (۱)

همچنین میزان نفوذپذیری به بخار آب از ضرب نمودن نرخ انتقال بخار آب در ضخامت فیلم‌ها و تقسیم آن در اختلاف فشار موجود در دو سمت فیلم به‌دست آمد و به‌صورت $g\ pas^{-1}\ m^{-1}\ s^{-1}$ گزارش شد.

زاویه تماس قطره آب (CA)

زاویه تماس فیلم‌های شناساگر تهیه شده به‌عنوان فاکتوری از میزان آب‌دوستی و آب‌گریزی مواد با استفاده از دستگاه Rycobel ساخت کشور سوئیس مورد بررسی قرار گرفت. حدود ۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر و فاقد یون به‌وسیله میکروسرنگ بر سطح افقی فیلم در دمای ۲۲± ۵ درجه سانتی‌گراد با ۳ تکرار قرار گرفت و در نهایت میزان زاویه تماس در طول مدت زمان یک دقیقه اندازه‌گیری شد (Ghaderi et al., 2019).

خواص مکانیکی

ضخامت فیلم‌ها در پنج نقطه از هر تکرار توسط ریزسنج دیجیتالی ۰/۰۰۱ میلی‌متر (Mitutoyo، ژاپن) اندازه‌گیری شد. به‌منظور بررسی خاصیت مکانیکی نمونه‌ها ابتدا فیلم‌ها در ابعاد (۱۰×۶۰ میلی‌متر) برش داده شد و آزمون کشش طبق استاندارد D882-09 مصوب ASTM انجام شد. سرعت کشش ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه و فاصله بین دو فک ۳ سانتی‌متر انتخاب شد. شاخص‌های مقاومت کششی (TS) (MPa) و درصد کرنش در نقطه شکست (EAB) (٪) (۱۰۰× طول اولیه/ تغییر طول اولیه) از روی منحنی‌های نیرو بر حسب تغییر شکل به دست آمدند (ASTM, 2002).

ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی

خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های تهیه شده با استفاده از روش خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH انجام شد. به این منظور ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره فیلم به ۵۰ میکرولیتر محلول DPPH اضافه شد، همچنین از محلول DPPH فاقد فیلم به‌عنوان نمونه کنترل استفاده شد. پس از ۶۰ دقیقه نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، جذب نمونه‌های حاصل در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت

خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد (Jiang et al., 2020).

$$\text{(۲)} \quad \text{مهار فعالیت رادیکال آزاد} \ (\%) = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times ۱۰۰$$

در این فرمول A_0 و A_s به ترتیب نشان‌دهنده جذب نوری محلول شاهد (محلول DPPH) و شناساگر می‌باشند.

تغییرات رنگی فیلم‌های شناساگرها

به‌منظور ارزیابی تغییر رنگ فیلم‌های شناساگر تهیه شده در pHهای مختلف، ابتدا محلول‌هایی با pH ۲ تا ۱۳ با استفاده از HCl و NaOH تهیه گردید. در ادامه فیلم‌های شناساگر در ابعاد ۲×۲ برش داده شده و به مدت ۲ دقیقه در معرض میزان ۱۰ میکرولیتر از محلول های تهیه شده در pHهای مختلف (۲ تا ۱۳) قرار گرفت. سپس عکس-برداری از نمونه‌ها در شرایط یکسان انجام شد (Jiang et al., 2020).

تغییرات رنگی شناساگرهای تهیه شده نسبت به گاز آمونیاک

به‌منظور ارزیابی پاسخ رنگی فیلم‌های شناساگر به گاز آمونیاک، نمونه‌های فیلم تهیه شده در ابعاد ۲×۲ برش داده شده و به دیواره ظرف سر پوشیده (بشر) چسبانده شد. سپس به میزان ۵ میلی‌لیتر آمونیاک به محیط نمونه وارد و پس از گذشت ۲ دقیقه، تغییرات رنگی به دست آمده ثبت گردید (Jiang et al., 2020; Bolin and Huxsoll., 1991).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۵ انجام شد. تمامی نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار ارائه شده است. جهت تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف از نقطه نظر شاخص‌های اندازه‌گیری شده، از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) در قالب آزمون دانکن و در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ استفاده گردید.

نتایج و بحث

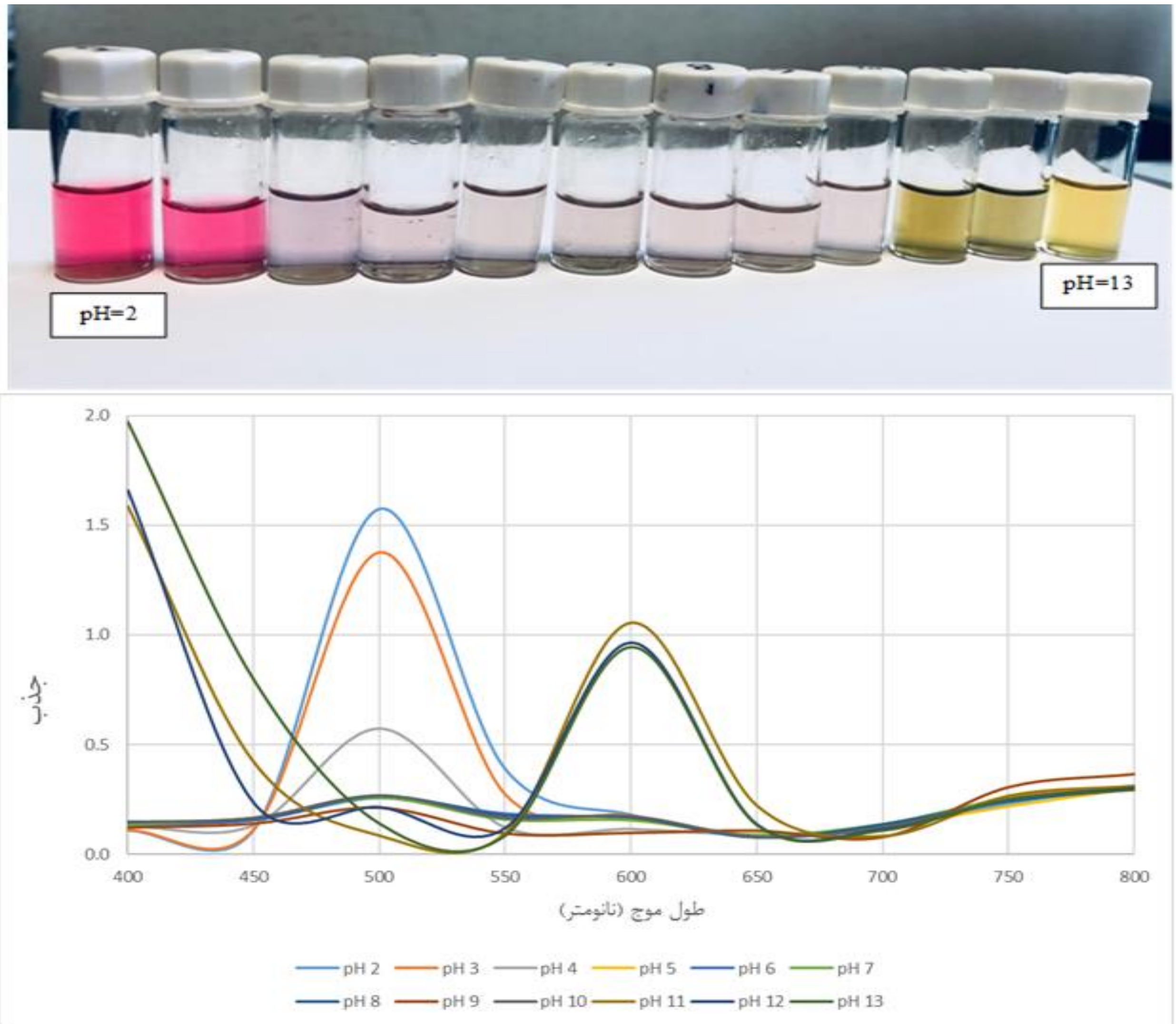
تغیرات رنگی آنتوسیانین استخراج شده در pHهای مختلف

در صنعت مواد غذایی آنتوسیانین‌ها به‌عنوان رنگدانه‌های طبیعی و محلول در آب به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند (Tsai et al., 2002). همانطور که ذکر شد گیاهان حاوی این ترکیبات به‌واسطه تغییر رنگ در pHهای مختلف می‌توانند به‌عنوان جز فعال در ماتریس زمینه ای بسته‌بندی‌های هوشمند مورد استفاده قرار گیرند. حساسیت آنتوسیانین استخراج شده در این تحقیق در pHهای ۲ تا ۱۳ مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۱ (الف) مشاهده می‌شود در pHهای ۲ و ۳ رنگ محلول قرمز بود. در pHهای ۴ تا ۱۰ رنگ محلول به صورت بی‌رنگ تا صورتی کمرنگ مشاهده شد. در pHهای ۱۱ تا ۱۳ محلول به رنگ سبز کمرنگ تا زرد تغییر یافت. شکل ۱ (ب) تغییرات در میزان جذب نور محلول آنتوسیانین تحت تاثیر pHهای مختلف را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود میزان جذب در pHهای کمتر از ۹ بیشتر بود به‌طوری که بیشترین میزان جذب در pH برابر ۲ و طول موج حدود ۵۰۰ نانومتر مشاهده شد اما در این طول موج میزان جذب در pHهای قلیایی کمتر بود. در pHهای قلیایی (۱۱، ۱۲ و ۱۳) یک پیک جذب نسبتا قوی در طول موج حدود ۶۰۰ نانومتر مشاهده شد. تغییرات در میزان جذب نوری بیانگر حساسیت آنتوسیانین استخراج شده به pHهای متفاوت می‌باشد. علت تشکیل رنگ‌های حاصل و همچنین تفاوت در میزان جذب طیف‌ها مربوط به تغییر ساختار آنتوسیانین استخراج شده در pHهای مختلف می‌باشد، که دلیل این تغییر ساختار، انتقال یون هیدروژن (H^+) است. به‌طوری که در اسیدیته بالا منجر به تشکیل فرم کاتیون فلاویلیوم می‌گردد که ترکیب تشکیل شده پایدار بوده و حاوی رنگ قرمز می‌باشد (Remon et al., 2000). اما در pH بالا ساختار آنتوسیانین تخریب شده و منجر به تشکیل رنگ سبز می‌شود (Grajeda-Iglesias et al., 2017). در این رابطه پیشتر آنتوسیانین از سیب‌زمینی شیرین بنفش (*Ipomoea batatas*) توسط Jiang و همکاران (۲۰۲۰) استخراج گردید و نتایج نشان داد که آنتوسیانین استخراج شده به قرارگیری در معرض pHهای مختلف حساس بوده و به صورت تغییر رنگ از قرمز تا آبی و سبز واکنش نشان می‌دهد (Jiang et al., 2020). همچنین، آنتوسیانین از گیاه بلوبری توسط Luchese و همکاران، (۲۰۱۷) استخراج شده است که در pH اسیدی رنگ متمایل به قرمز را نشان داده و با افزایش pH منتج به تغییر رنگ از قرمز به سبز گردید (Luchese et al., 2017).

طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

در بررسی طیف مادون قرمز، برهمکنش‌های بین مولکولی ترکیب‌ها و تغییرات در گروه‌های عاملی آن‌ها تحلیل می‌گردد. نتایج طیف‌سنجی فیلم‌های شناساگر حاوی آنتوسیانین ریحان بنفش در شکل ۲ نشان‌داده شده است. پیک‌های مشاهده شده در محدوده $۳۰۰۰ \ cm^{-1}$ تا ۳۵۰۰ مرتبط با باندهای کششی گروه هیدروکسیل آزاد و باندهای کششی متقارن و نامتقارن N-H در گروه آمین می‌باشد که در تمامی تیمارها قابل مشاهده است (Ojagh et al., 2018). با افزایش غلظت آنتوسیانین تا ۸۰ میلی‌گرم از شدت پیک‌های تشکیل شده در این محدوده کاسته شد. همچنین، در تمامی تیمارها در محدوده $۱۰۰۰ \ cm^{-1}$ تا ۲۰۰۰ پیک‌های متداولی قابل مشاهده بود که می‌تواند مرتبط با

پیوندهای ارتعاشی C=C (۱۵۹۳ cm^{-1}) و پیوندهای ارتعاشی N-H (۶۴۱ cm^{-1}) باشد (Jiang et al., 2020; Ma and Wang., 2011; Ojagh et al., 2018).



شکل ۱- بازه تغییرات رنگی و جذب محلول حاوی آنتوسیانین استخراج شده از ریحان بنفش در pHهای مختلف

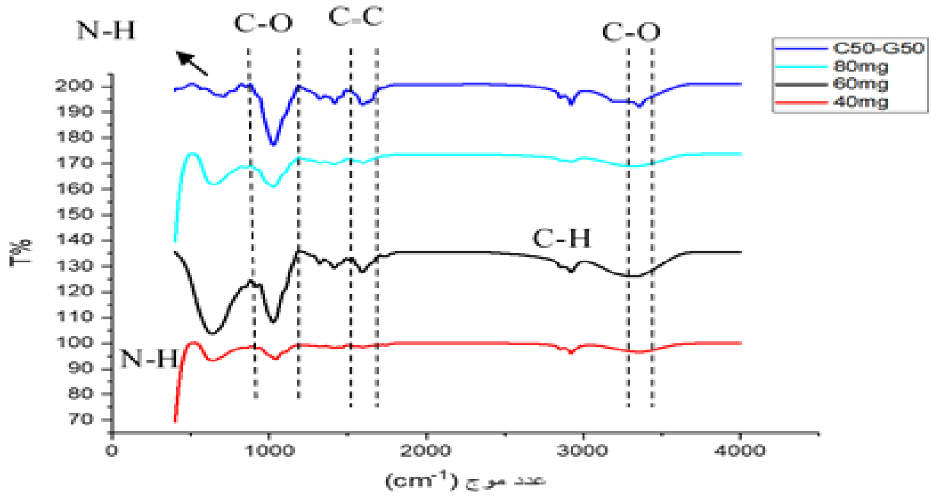
Fig. 1. Range of color changes and absorption of solution containing anthocyanin extracted from Violet Basil at different pH

این تغییرات جزئی در شدت و نواحی پیک‌های تشکیل شده می‌تواند نشان‌دهنده اختلاط مناسب آنتوسیانین در بستر فیلم‌ها باشد. اما جزئی بودن این تغییرات می‌تواند به مقدار کم آنتوسیانین استفاده شده در بستر فیلم‌ها نسبت داده شود. علت پیک‌های تشکیل شده را نیز می‌توان با ایجاد پیوند بین گروه هیدروکسیل صمغ عربی و کربوکسی متیل سلولز با گروه آمینی آنتوسیانین استخراج شده توجیه کرد (Xu et al., 2019). پیک‌های مشاهده شده در محدوده ۵۰۰ تا ۶۰۰ cm^{-1} می‌تواند مرتبط با وضعیت آنومری در فرم پیرانوزی قندها و همچنین گلیسرول استفاده شده در محلول فیلم شناساگرها باشد. در این رابطه، نتایج مشابهی در تحقیق Jiang و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده شد. مطابق با نتایج این پژوهش، با افزودن آنتوسیانین استخراج شده از کلم بنفش پیک‌های جدیدی در آزمون FTIR تشکیل شد، اما افزایش غلظت آنتوسیانین در بستر فیلم‌ها تفاوت چندانی در شدت پیک‌های تشکیل شده ایجاد نکرد (Jiang et al., 2020).

پراش پرتو ایکس (XRD)

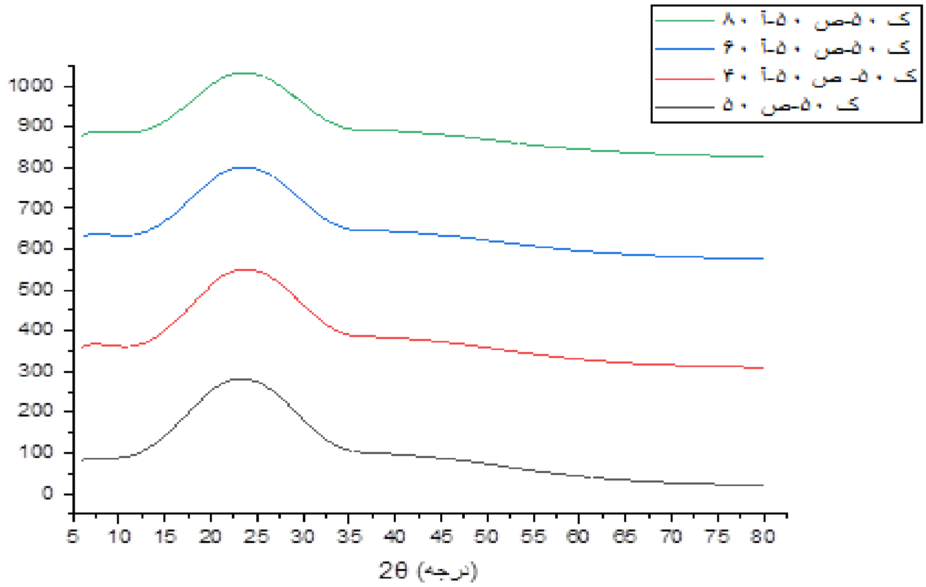
آزمون پراش پرتو ایکس (XRD) نشان‌دهنده ساختار کریستالی فیلم‌های تهیه شده و بی نظمی‌های ناشی از تشکیل پیوندهای عرضی

بین پلیمرها می‌باشد (Qi et al., 2009). نتایج حاصل از آزمون XRD در شکل ۳ نشان داده شده است. در نمونه‌های فیلم فاقد آنتوسیانین (نمونه شاهد) یک پیک در محدوده ۲۳/۱۱ مشاهده شد. با افزودن آنتوسیانین استخراج شده از ریحان بنفش در سه غلظت ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در بستر فیلم کامپوزیتی، زوایای پیک‌های تشکیل شده نسبت به فیلم های تیمار کنترل، تغییرات جزئی داشت که این پیک به ترتیب به درجات بالاتر ۲۳/۲۳، ۲۳/۳۱ و ۲۳/۳۲ انتقال یافت. دلیل این امر می‌تواند مربوط به اختلاط مناسب این ترکیبات و تغییر در پیوندهای تشکیل شده بین گروه‌های عاملی آن‌ها باشد (Huang et al., 2019; Jiang et al., 2020).



شکل ۲- الگوی طیف مادون قرمز (FTIR) فیلم‌های کنترل و فیلم‌های شناساگر حاوی غلظت‌های مختلف آنتوسیانین ریحان بنفش

Fig. 2. Infrared spectrum pattern (FTIR) of control films and detector films containing different concentrations of Violet Basil anthocyanin



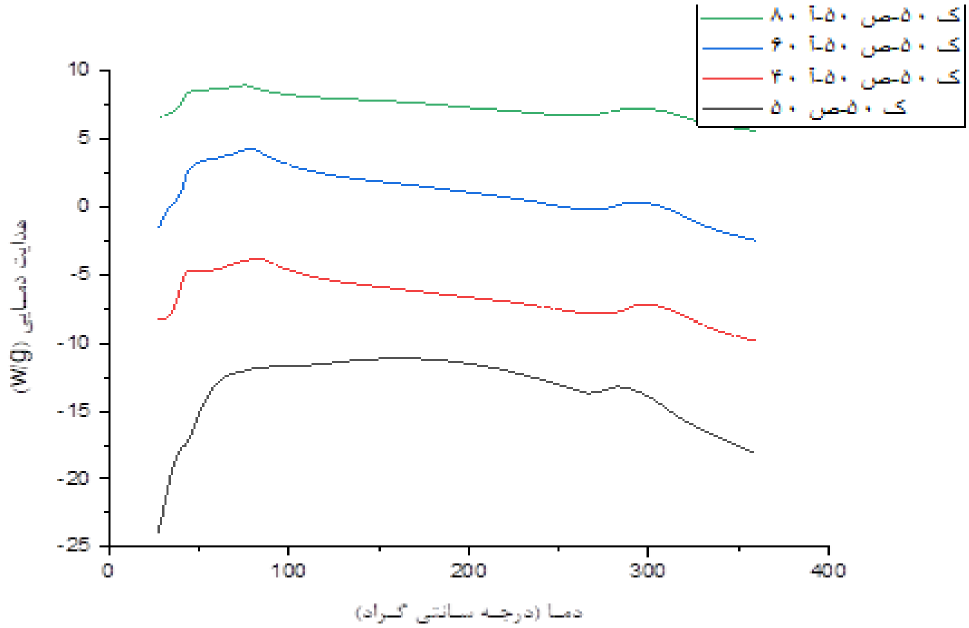
شکل ۳- الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) فیلم‌های کنترل و فیلم های شناساگر حاوی غلظت‌های مختلف آنتوسیانین ریحان بنفش

Fig. 3. X-ray diffraction pattern (XRD) of control films and detector films containing different concentrations of Violet Basil anthocyanins

گرماسنجی افتراقی (DSC)

امتزاج‌پذیری پلیمرها از عوامل مهم در بهبود ترکیبات نوین حاصل از ترکیب پلیمرها است که بر خواص نهایی آن‌ها تاثیر می‌گذارد (Kanimozhi et al., 2016). به این منظور، خواص حرارتی شناساگرهای تهیه شده (فیلم‌های کامپوزیت حاوی آنتوسیانین) مورد ارزیابی قرار گرفت. مطابق نتایج به دست آمده (شکل ۴)، با افزودن

آنتوسیانین در بستر فیلم کامپوزیتی (فیلم شاهد) دمای انتقال ذوب از ۲۶۵/۱۵ درجه سانتی‌گراد به ۲۵۷/۳۸ درجه سانتی‌گراد در فیلم حاوی ۸۰ میلی‌گرم آنتوسیانین کاهش یافت. بر این اساس می‌توان عنوان کرد که افزودن آنتوسیانین منجر به کاهش مقاومت برهمکنش‌های شیمیایی و پیوندهای تشکیل شده در فیلم‌های کامپوزیتی حاوی آنتوسیانین گردیده است. این نتایج با نتایج خواص فیزیکی و مکانیکی که در ادامه به آن پرداخته خواهد شد مطابقت دارد. نتایج مشابهی در تحقیقات Ma و Wang (۲۰۱۶) در مطالعه شناساگرهای بر پایه صمغ تارا و سلولز حاوی آنتوسیانین پوسته انگور؛مشاهده شد (Ma and Wang., 2011). اما در نتایج تحقیقات Jiang و همکاران (۲۰۲۰) با افزایش میزان آنتوسیانین، مقاومت حرارتی افزایش یافت که دلیل این امر به بهبود قدرت و تعداد پیوندهای گروه‌های هیدروکسیل نسبت داده شده است (Jiang et al., 2020).



شکل ٤- الگوی مقاومت حرارتی (DSC) فیلم‌های کنترل و فیلم‌های شناساگر حاوی غلظت‌های مختلف آنتوسیانین ریحان بنفش

Fig. 4. Thermal resistance pattern (DSC) of control films and detector films containing different concentrations of Violet Basil anthocyanin

نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP)

با توجه به این که آب جزء عوامل مهم و تاثیرگذار در واکنش‌های مرتبط با فساد مواد غذایی شناخته شده است، نرخ انتقال بخار آب از مهم‌ترین ویژگی‌های مرتبط با پلیمرهای مورد استفاده در صنعت بسته بندی محسوب می‌شود (Jamshidian et al., 2012). به‌طوری که یکی از کاربردهای اصلی بسته‌بندی، حفظ ماده غذایی در برابر انتقال رطوبت است. میزان انتقال بخار آب در فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر به ماهیت آبدوستی یا آبگریزی، نحوه ساخت، میزان و نوع افزودنی‌های مورد استفاده بستگی دارد. بنابراین در تحقیق حاضر میزان نفوذپذیری فیلم‌های شناساگر تهیه شده بر اساس نرخ انتقال بخار آب نسبت به زمان اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد (جدول ۱) که با افزودن آنتوسیانین میزان نفوذپذیری به بخار آب به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/05$). به‌طوری که این میزان از ۳/۰۰ ($g\ pas^{-1}\ m^{-1}\ s^{-1}$) در فیلم کامپوزیتی حاوی ۵۰ درصد از هر پلیمر (ک ۵۰: ص ۵۰) به ۴/۷۳ ($g\ pas^{-1}\ m^{-1}\ s^{-1}$) در فیلم شناساگر حاوی ۸۰ میلی‌گرم آنتوسیانین رسید. علت این امر می‌تواند مرتبط با کاهش فشردگی ساختاری و از بین رفتن یکپارچگی در سطح نمونه‌های تهیه شده باشد؛ زیرا نحوه قرارگیری و ترکیبات موجود در آنتوسیانین منجر به ایجاد تغییراتی در سطح ساختار مولکولی پلیمرها شده و لذا فشردگی نمونه‌های تهیه شده کاهش یافته است. در نتیجه این پدیده سبب تسریع عبور بخار آب از شناساگرها گردیده است (Jiang et al., 2020; Xu et al., 2019; Ma and Wang., 2016). همچنین با افزایش سطح آنتوسیانین در بستر فیلم‌ها میزان انتقال بخار آب به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($p<0/05$) که این امر را می‌توان مرتبط با تشکیل ترک و منافذ ناشی از افزایش غلظت آنتوسیانین مرتبط دانست. در این زمینه پیشتر Yong و همکاران (۲۰۱۹) بیان داشتند که با افزودن آنتوسیانین استخراج شده از سیب-زمینی شیرین در بستر فیلم کیتوزان، نرخ انتقال بخار آب افزایش یافت (Yong et al., 2019).

زاویه تماس قطره آب

زاویه تماس به‌عنوان شاخصی از میزان آبگریزی و آبدوستی سطحی اجسام و پلیمرها شناخته شده است (Ojagh et al., 2010). در واقع زاویه تشکیل شده از تقاطع دو خط مورب به سطح مایع و جامد در محل تماس با هوا به‌عنوان زاویه تماس در نظر گرفته می‌شود و می‌تواند به‌عنوان معیاری مناسب به‌منظور تعیین میزان آبدوستی در نظر گرفته شود. به این منظور در این تحقیق آزمون زاویه تماس انجام شد و نتایج حاصل در جدول ۱ خلاصه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزودن آنتوسیانین در بستر فیلم‌ها میزان زاویه تماس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵). به طوری که بیشترین میزان آن در تیمار فاقد آنتوسیانین مشاهده شد و برابر با ۶۶/۸۰ درجه بود. اما با افزایش سطح آنتوسیانین میزان زاویه تماس قطره با سطح نمونه به ۵۵/۳۳ درجه در تیمار حاوی ۸۰ میلی‌گرم آنتوسیانین کاهش یافت. از آنجا که کاهش میزان زاویه تماس نشان از افزایش آبدوستی نمونه می‌باشد، می‌توان بیان نمود که به دلیل حضور احتمالی ترکیبات آبدوست در آنتوسیانین استفاده شده در ماتریس فیلم تولیدی، زاویه تماس یا به عبارتی ضریب آب‌گریزی کاهش پیدا کرده است.

خواص مکانیکی

خواص مکانیکی از عوامل مهم و تاثیرگذار در پایداری بسته‌بندی در هنگام حمل و نقل است که به نحوه ساخت و برهمکنش بین پلیمرهای سازنده بستگی دارد (Sothornvit et al., 2005). با افزایش برهمکنش‌های مناسب و برقراری پیوندهای هیدروژنی بین ترکیبات خواص مکانیکی فیلم‌ها افزایش می‌یابد. در این پژوهش به‌منظور بررسی خواص مکانیکی نمونه‌ها، میزان مقاومت کششی (TS) و درصد افزایش طول در لحظه پارگی (EAB) آن‌ها اندازه‌گیری و نتایج بدست آمده در جدول ۱ نشان‌داده شده است. مطابق با نتایج میزان مقاومت کششی با افزودن آنتوسیانین در بستر فیلم‌ها در ابتدا به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵) و از ۱۹/۰۰ مگاپاسکال در فیلم شاهد (ک ۵۰: ص ۵۰) به ۲۳/۶۴ مگاپاسکال در نمونه حاوی ۶۰ میلی‌گرم آنتوسیانین (ک ۵۰: ص۵۰– آ ۶۰) رسید. این افزایش مقاومت ابتدایی ممکن است به دلیل تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های عاملی موجود در ترکیب صمغ عربی–کربوکسی متیل سلولز با آنتوسیانین اضافه شده باشد. این گونه اتصالات باعث می‌شود زنجیره‌های پلیمری به صورت محکم‌تری به یکدیگر متصل شوند و مقاومت کششی افزایش یابد. سپس با افزایش سطح آنتوسیانین تا ۸۰ میلی‌گرم مقاومت کششی شناساگر تهیه شده (ک ۵۰: ص ۵۰– آ ۸۰) به ۱۴/۱۱ مگاپاسکال کاهش یافت. این موضوع را چنین می‌توان توجیه کرد که افزایش غلظت آنتوسیانین در فیلم‌ها منجر به از بین رفتن ساختار یکپارچه آن‌ها شده و همچنین منتج به عدم ارتباط مناسب بین پلیمرها گردید.

جدول ۱- ویژگی فیزیکی (نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) و زاویه تماس (CA)) و مکانیکی (مقاومت کششی (TS) و درصد افزایش طول (EAB)) شناساگرهای تهیه شده.

Table 1- Physical properties (water vapor permeability and contact angle) and mechanical properties (tensile strength and elongation at break) of prepared indicator.

نوع فیلم	نفوذپذیری نسبت به بخار آب (WVP) ($g\ pas^{-1}\ m^{-1}\ s^{-1}$)	مقاومت کششی (TS) (MPa)	درصد افزایش طول (٪) (EAB)	زاویه تماس (°) (CA)
ک ۵۰:ص ۵۰ C50:G50	3± 0.09 [c]	19± 0.62 [b]	6.08± 0.72 [a]	66.80± 0.75 [a]
ک ۵۰:ص ۵۰–آ ٤۰ A40–C50:G50	3.57± 0.35 [b]	21.56± 3.76 [a]	2.49± 0.26 [b]	54.03± 3.95 [c]
ک ۵۰:ص ۵۰–آ ٦۰ A60–C50:G50	4.03± 0.18 [b]	23.64± 0.37 [a]	2.59± 0.11 [b]	56.62± 0.95 [b]
ک ۵۰:ص ۵۰–آ ۸۰ A80–C50:G50	4.73± 0.12 [a]	14.11± 1.52 [c]	1.56± 0.28 [c]	55.33± 0.57 [b]

حروف انگلیسی کوچک متفاوت در هر ستون تفاوت معنی‌دار بین هر تیمار را نشان می‌دهد (p<۰/۰۵).

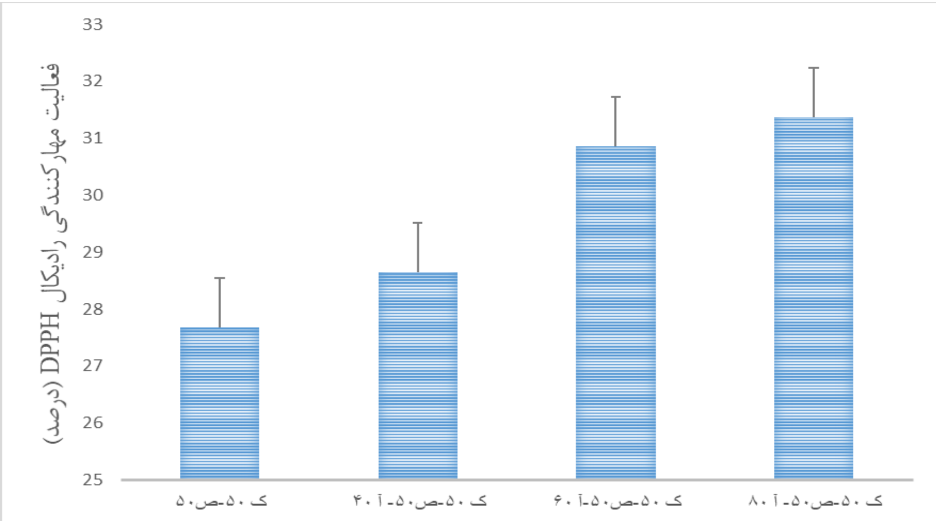
Different letters within a column indicate significant difference at $P < 0.05$.

Alizadeh و همکاران (۲۰۲۱) در بررسی خواص مکانیکی فیلم شناساگر حاوی آنتوسیانین زرشک بیان داشتند که با افزودن آنتوسیانین در ماتریس فیلم میزان مقاومت کششی به طور معنی‌داری کاهش یافته است (Alizadeh et al., 2021). همچنین مطالعات Ma و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که اضافه کردن آنتوسیانین پوست انگور به فیلم کامپوزیت صمغ تارا– سلولز در ابتدا منجر به افزایش مقاومت کششی

تا ۵۶ مگاپاسکال گردید اما با افزایش سطح آنتوسیانین میزان آن به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و به ۴۴ مگاپاسکال رسید که در واقع تایید کننده نتایج این تحقیق می‌باشد (Ma and Wang., 2016). در این مورد بیشترین میزان درصد افزایش طول در فیلم‌های کنترل مشاهده شد اما با اضافه کردن آنتوسیانین در بستر فیلم‌ها، درصد افزایش طول در لحظه پارگی کاهش یافت؛ به طوری که در تمام سطوح آنتوسیانین این کاهش معنی‌دار بوده است ($p<0.05$). در تحقیق صورت گرفته توسط Jiang و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده شد که بیشترین میزان درصد افزایش طول در لحظه پارگی مرتبط با نمونه شاهد می‌باشد و اضافه کردن آنتوسیانین تا غلظت ۰/۹ گرم منجر به کاهش حداکثر این پارامتر نسبت به سایر تیمارها گردید (Jiang et al., 2020).

خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

رادیکال آزاد DPPH یک ترکیب پایدار می‌باشد که بیشترین میزان جذب نوری را در طول موج ۵۱۷ نانومتر به نمایش می‌گذارد. این رادیکال در مطالعات گسترده‌ای که ترکیبات آن‌ها قادر به حذف رادیکال آزاد و یا دهنده هیدروژن می‌باشند، جهت سنجش ویژگی‌های مهارکنندگی رادیکال آزاد به‌عنوان یکی از آزمون‌های سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج ویژگی‌های آنتی-اکسیدانی نمونه‌های فیلم تهیه شده در تحقیق حاضر در شکل ۵ نشان داده شده است. در این آزمون تمامی نمونه‌ها دارای فعالیت آنتی-اکسیدانی بودند اما فیلم کامپوزیت کربوکسی متیل سلولز- صمغ عربی (ک۵۰: ص ۵۰) در مقایسه با تیمارهای حاوی شناساگر فعالیت آنتی-اکسیدانی کمتری را نشان داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم شاهد می‌تواند به دلیل واکنش بین رادیکال‌های آزاد و گروه آمین آزاد باقی‌مانده از آمونیوم باشد (Moradi et al., 2012). با افزودن آنتوسیانین به بستر فیلم‌ها، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها افزایش یافت. بدین ترتیب کمترین و بیشترین درصد خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها به ترتیب در تیمار شاهد (۲۷/۵٪) و تیمار حاوی ۸۰ میلی‌گرم آنتوسیانین (۳۱/۴٪) مشاهده شد. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که آنتوسیانین‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Ravanfar et al 2018). این خواص آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مرتبط با وجود گروه‌های فنولی در این ترکیبات باشد. در رابطه با ترکیات فنولی نیز، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها عمدتا مرتبط با خاصیت احیاکنندگی آن‌ها می‌باشد که می‌تواند نقش مهمی در جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد داشته باشد (Ravanfar et al., 2018). بنابراین خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها را می‌توان به وجود ترکیبات فنولی در هر دو ترکیب صمغ عربی و آنتوسیانین استخراج شده نسبت داد.

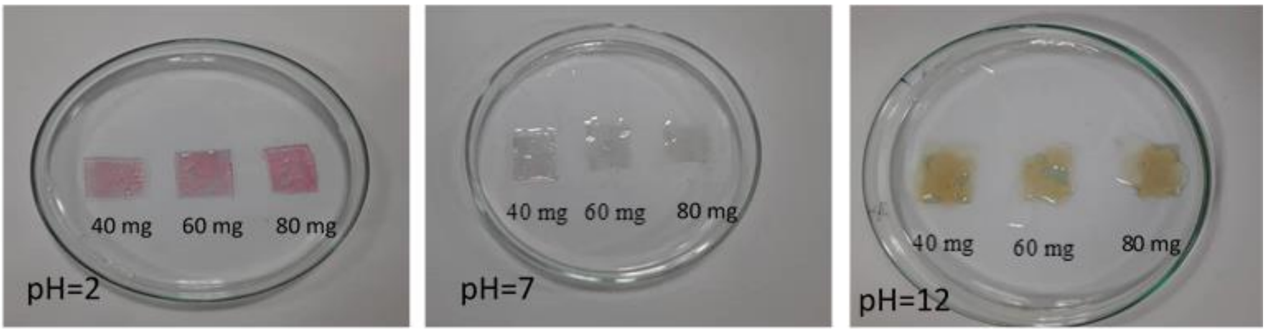


شکل ۵- خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH
Fig. 5. DPPH radical scavenging activity

پاسخ رنگی فیلم‌های شناساگر تهیه شده در pHهای مختلف

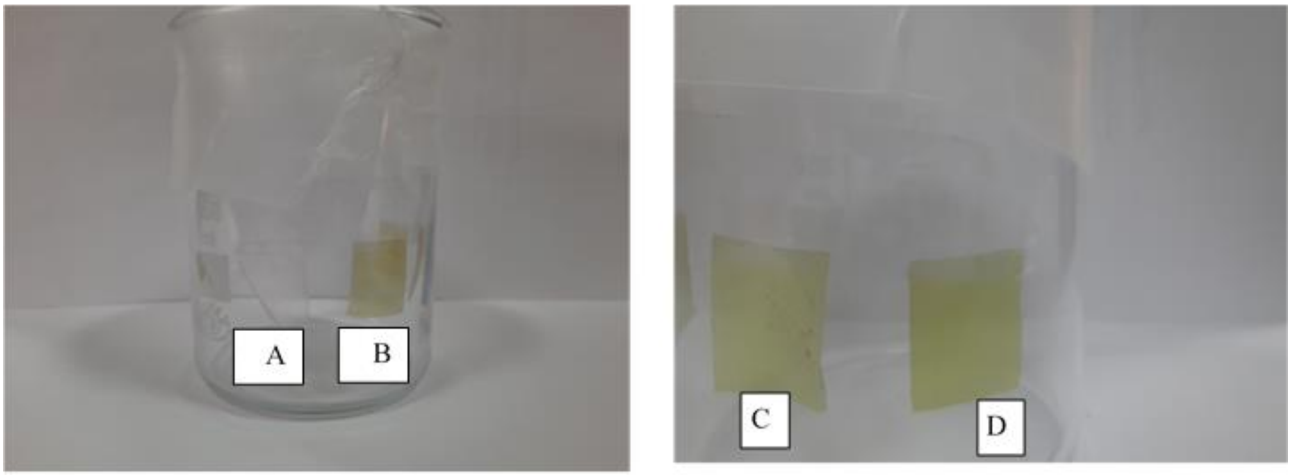
آزمون تغییرات رنگی شناساگرها در نمونه‌های حاوی آنتوسیانین در pHهای مختلف (۱۳- ۲) مورد ارزیابی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود در اسیدیته بالا نمونه‌ها دارای رنگ قرمز تا ارغوانی بودند اما با افزایش pH تا حد خنثی، نمونه‌ها بی‌رنگ شدند. همچنین با افزایش مجدد pH تا میزان حداکثر (pH قلیایی)، رنگ سطحی نمونه‌های فیلم شناساگر به زرد تغییر یافت. نتایج رنگ فیلم

های تهیه شده در pHهای مختلف با رنگ محلول‌های حاوی آنتوسیانین ریحان بنفش توضیح داده شده در بخش قبل تطابق داشت. همانطور که گفته شد علت این تغییرات رنگ مرتبط با تغییر ساختار آنتوسیانین استخراج شده در pHهای مختلف می‌باشد که در محیط اسیدی رنگ قرمز تا ارغوانی و در محیط‌های قلیایی رنگ سبز تا زرد را تشکیل می‌دهند (Remon et al., 2000). لذا با اضافه کردن این ترکیب در بستر فیلم کامپوزیت صمغ عربی-کربوکسی متیل سلولز خاصیت شناساگری در آن‌ها القا شده و با قرارگیری در pHهای مختلف به‌واسطه وجود این ترکیبات رنگ شناساگرها تغییر یافت. مشاهدات صورت گرفته توسط سایر محققان نیز اثبات کرده است که اضافه کردن آنتوسیانین در بستر فیلم‌های پلیمری باعث ایجاد حساسیت آن‌ها نسبت به pH می‌شود (Ezati and Rhim., 2020; Choi et al., 2017). علاوه بر این، مطالعات Yong و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان داد که فیلم شناساگر تهیه شده از کیتوزان حاوی آنتوسیانین سیب‌زمینی شیرین بنفش می‌تواند قابلیت تغییر رنگ در pHهای مختلف را داشته باشد، به طوری که در pH اسیدی دارای رنگ قرمز و با افزایش pH رنگ سبز مشاهده شود (Yong et al., 2019).



شکل ٦- پاسخ رنگی شناساگرهای تهیه شده از صمغ عربی- کربوکسی متیل سلولز حاوی غلظت‌های مختلف آنتوسیانین ریحان بنفش نسبت به pHهای متفاوت

Fig. 6. The color response of indicators prepared from gum Arabic -Carboxymethyl cellulose containing different concentrations of Violet Basil anthocyanin to different Ph



شکل ۷- پاسخ رنگی شناساگرهای تهیه شده از غلظت‌های مختلف آنتوسیانین ریحان بنفش (۰، ٤٠، ٦٠ و ۸۰ میلی‌گرم) نسبت به گاز آمونیاک. A= تیمار شاهد، B= ٤٠ میلی‌گرم آنتوسیانین، C= ٦٠ میلی‌گرم آنتوسیانین، D= ۸۰ میلی‌گرم آنتوسیانین

Fig. 7. The color response of the indicators prepared from different concentrations of Violet Basil anthocyanin (0, 40, 60 and 80 mg) to ammonia gas. A= Control treatment, B= 40 mg Anthocyanin, C= 60 mg Anthocyanin, D= 80 mg Anthocyanin,

پاسخ رنگی شناساگرهای تهیه شده نسبت به گاز آمونیاک

به‌منظور شبیه‌سازی گاز آمونیاک حاصل از فساد ماهی، بررسی تغییرات رنگی شناساگرهای تهیه شده تحت تاثیر گاز آمونیاک مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۷). همانطور که مشاهده می‌شود شناساگرهای تهیه شده نسبت به گاز آمونیاک به صورت تغییرات رنگی واکنش نشان داده و رنگ شناساگرها به رنگ زرد تغییر یافت. مکانیسم این تغییر رنگ به این صورت می‌باشد که ابتدا آمونیاک فرار با مولکول های آب موجود در شناساگرها واکنش داده و کمپلکس آمونیاک-آب را

تشکیل می‌دهند که سپس به فرم‌های NH^{+4} و OH^{-} هیدرولیز می‌شود. این تغییرات در میزان OH^{-} منجر به تغییر pH شده و در نهایت تغییرات رنگی در سطح شناساگرها را به همراه دارد (Jiang et al., 2012). در این مورد فیلم شاخص pH بر پایه متیل سلولز- کیتوزان حاوی آنتوسیانین زرشک (*Berberries*) توسط Alizadeh-sani و همکاران (۲۰۲۱) تهیه گردید. نتایج نشان داد که با قرارگیری فیلم شناساگر در معرض بخار آمونیاک رنگ سطحی به زرد تا سبز تغییر می‌یابد (Alizadeh et al., 2021). همچنین نتایج مشابهی در مطالعات Liu و همکاران (۲۰۲۱) در فیلم کامپوزیت پلی‌ونیل الکل-کربوکسی متیل سلولز حاوی آنتوسیانین کلم قرمز مشاهده شده است. این محققان دریافتند شناساگرهای تهیه شده از حساسیت بالایی نسبت به گاز آمونیک برخوردار هستند (Liu et al., 2021).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، ابتدا آنتوسیانین از ریحان بنفش استخراج و واکنش رنگی محلول آن نسبت به pHهای مختلف و گاز آمونیاک بررسی گردید. سپس فیلم شناساگر حساس به pH بر پایه فیلم کامپوزیت صمغ عربی-کربوکسی متیل سلولز حاوی آنتوسیانین ریحان بنفش تهیه و خصوصیات مختلف آن بررسی شد. نتایج آزمون‌های DSC و FTIR نشان‌داد که آنتوسیانین به موجب فعل و انفعالاتی بین محلول فیلم و آنتوسیانین با موفقیت در بستر فیلم مورد نظر امتزاج یافته است. افزودن آنتوسیانین به فیلم‌های شناساگر منجر به کاهش مقاومت کششی، درصد افزایش طول و زاویه تماس گردید. همچنین میزان نفوذپذیری نسبت به بخار آب با اضافه کردن سطح آنتوسیانین افزایش یافت. علاوه براین سنجش خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH نشان‌داد که تمامی نمونه‌ها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند و با افزایش غلظت آنتوسیانین این شاخص افزایش یافت. حساسیت شناساگرهای تهیه شده نسبت به گاز آمونیاک و pH نیز بررسی شد و نتایج حاکی از آن بود که، با اضافه کردن آنتوسیانین ریحان بنفش در بستر فیلم زیستی، قابلیت تغییر رنگ در آن‌ها به وجود آمده و از رنگ قرمز (pH اسیدی) تا رنگ زرد (pH قلیایی) متغییر هستند. به این ترتیب فیلم تهیه شده می‌تواند به‌عنوان شناساگر غیرسمی، زیست تخریب‌پذیر و سازگار با محیط زیست در داخل بسته‌بندی هوشمند به‌منظور ارزیابی فساد مواد غذایی به‌ویژه محصولات شیلاتی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

1. Alizadeh-Sani, M., Tavassoli, M., Mohammadian, E., Ehsani, A., Khaniki, G. J., Priyadarshi, R., & Rhim, J. W. (2021). pH-responsive color indicator films based on methylcellulose/chitosan nanofiber and barberry anthocyanins for real-time monitoring of meat freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 741-750. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.231
2. Amalraj, A., Haponiuk, J. T., Thomas, S., & Gopi, S. (2020). Preparation, characterization and antimicrobial activity of polyvinyl alcohol/gum arabic/chitosan composite films incorporated with black pepper essential oil and ginger essential oil. *International journal of biological macromolecules*, 151, 366-375. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.176
3. ASTM (2002). Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Annual Book of ASTM Standards. Designation D882-02. Philadelphia: American Society for Testing Materials.
4. Bolin, H. R., & Huxsoll, C. C. (1991). Effect of preparation procedures and storage parameters on quality retention of salad-cut lettuce. *Journal of Food Science*, 56(1), 60-62. 10.1111/j.1365-2621.1991.tb07975.x
5. Castañeda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001
6. Chen, H. Z., Zhang, M., Bhandari, B., & Yang, C. H. (2020). Novel pH-sensitive films containing curcumin and anthocyanins to monitor fish freshness. *Food Hydrocolloids*, 100, 105438. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105438
7. Chen, S., Wu, M., Lu, P., Gao, L., Yan, S., & Wang, S. (2020). Development of pH indicator and antimicrobial cellulose nanofibre packaging film based on purple sweet potato anthocyanin and oregano essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 271-280. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.231
8. Choi, I., Lee, J. Y., Lacroix, M., & Han, J. (2017). Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry*, 218, 122-128. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.050
9. Chun, J., & Rainey, F. A. (2014). Integrating genomics into the taxonomy and systematics of the Bacteria and Archaea. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(2), 316-324. https://doi.org/10.1099/ijs.0.054171-0
10. Close, D. C., & Beadle, C. L. (2003). The ecophysiology of foliar anthocyanin. *The Botanical Review*, 69(2), 149-161. https://doi.org/10.1663/0006-8101(2003)069[0149:TEOFA]2.0.CO;2

11. Ezati, P., & Rhim, J. W. (2020). pH-responsive chitosan-based film incorporated with alizarin for intelligent packaging applications. *Food Hydrocolloids*, 102, 105629. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105629
12. Ghaderi, J., Hosseini, S. F., Keyvani, N., & Gómez-Guillén, M. C. (2019) Polymer blending effects on the physicochemical and structural features of the chitosan/poly (vinyl alcohol)/fish gelatin ternary biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 95, 122-132. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.021
13. Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., & Oromiehie, A. (2011). pHysical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from Kefiran. *Carbohydrate Polymers*: 84(1), 477-483. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.010
14. Golasz, L. B., Silva, J. D., & Silva, S. B. D. (2013). Film with anthocyanins as an indicator of chilled pork deterioration. Food Science and Technology, 33, 155-162. https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000500023
15. Grajeda-Iglesias, C., Salas, E., Barouh, N., Baréa, B., & Figueroa-Espinoza, M. C. (2017). Lipophilization and MS characterization of the main anthocyanins purified from hibiscus flowers. *Food Chemistry*, 230, 189-194. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.140
16. Huang, S., Xiong, Y., Zou, Y., Dong, Q., Ding, F., Liu, X., & Li, H. (2019). A novel colorimetric indicator based on agar incorporated with *Arnebia euchroma* root extracts for monitoring fish freshness. *Food Hydrocolloids*, 90, 198-205. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.009
17. Inyoung Choi., Jun Young Lee., Monique Lacroix., & Jaejoon Han. (2017). Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry*. 218: 122-128. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.050
18. Jahit, I. S., Nazmi, N. N. M., Isa, M. I. N., & Sarbon, N. M. (2016). Preparation and physical properties of gelatin/CMC/chitosan composite films as affected by drying temperature. *International Food Research Journal*, *23*(3).
19. Jamshidian, M., Tehrany, E.A., Imran, M., Akhtar, M.J., Cleymand, F., Desobry, S. (2012). Structural, mechanical and barrier properties of active PLA-antioxidant films. *Journal of food Engineering*, 110 (3): 380-389. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.12.034
20. Jiang, G., Hou, X., Zeng, X., Zhang, C., Wu, H., Shen, G., Zhang, Z. (2020). Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (Ipomoea batatas (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. *International journal of biological macromolecules*, 143, 359-372. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.024
21. Jiang, X., Jiang, T., Gan, L., Zhang, X., Dai, H., Zhang, X. (2012). The plasticizing mechanism and effect of calcium chloride on starch/ poly (vinyl alcohol) films, Carbohydr Polym. 90(4) 1677-1684. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.050
22. Kanimozhi, K., Basha, S. K., & Kumari, V. S. (2016). Processing and characterization of chitosan/PVA and methylcellulose porous scaffolds for tissue engineering. *Materials Science and Engineering*: C, 61, 484-491. https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.084
23. Kerry, J. and Butler, P., (2008). Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods: Wiley Online Library, 681-689p.
24. Kuswandi, B., Larasati, T.S., Abdullah, A. and Heng, L.Y., (2012a). Real-Time Monitoring of Shrimp Spoilage Using on-Package Sticker Sensor Based on Natural Dye of Curcumin. *Food Analytical Methods*, 5(4): 881-889. https://doi.org/10.1007/s12161-011-9326-x
25. Liang, T., Sun, G., Cao, L., Li, J., & Wang, L. (2019). A pH and NH3 sensing intelligent film based on Artemisia sphaerocephala Krasch. gum and red cabbage anthocyanins anchored by carboxymethyl cellulose sodium added as a host complex. *Food Hydrocolloids*, 87, 858-868. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.028
26. Liu, D., Cui, Z., Shang, M., & Zhong, Y. (2021). A colorimetric film based on polyvinyl alcohol/sodium carboxymethyl cellulose incorporated with red cabbage anthocyanin for monitoring pork freshness. *Food Packaging and Shelf Life*, 28, 100641. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100641
27. Luchese, C. L., Sperotto, N., Spada, J. C., & Tessaro, I. C. (2017). Effect of blueberry agro-industrial waste addition to corn starch-based films for the production of a pH-indicator film. *International journal of biological macromolecules*, 104, 11-18. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.149
28. Ma, Q., & Wang, L. (2016). Preparation of a visual pH-sensing film based on tara gum incorporating cellulose and extracts from grape skins. Sensors and Actuators B: *Chemical*, 235, 401-407. https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.05.107
29. Mariniello, L., Di Pierro, P., Esposito, C., Sorrentino, A., Masi, P., & Porta, R. (2003). Preparation and mechanical properties of edible pectin–soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. *Journal of Biotechnology*, 102(2), 191-198. https://doi.org/10.1016/S0168-1656(03)00025-7

30. Moradi, M., Tajik, H., Rohani, S. M. R., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J., & Hadian, M. (2012). Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. LWT-*Food Science and Technology*, 46(2), 477-484. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.020
31. Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122(1), 161-166. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.033
32. Ojagh, S.M., Shariatmadari, F., Adeli, A., Kordjozi, M., & Abdolahi, M. (2018). Development composite films based chitosan-Katira and evaluation physical and mechanical properties. *Innovative Food Technologies*. 4, 151-161. (In Persian)
33. Pereira, V.A., de Arruda, I.N.Q. and Stefani, R., (2015). Active Chitosan/PVA Films with Anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as Time–Temperature Indicators for Application in Intelligent Food Packaging. *Food Hydrocolloids*, 43(2): 180-188. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.014
34. Qi, H., Cai, J., Zhang, L., & Kuga, S. (2009). Properties of films composed of cellulose nanowhiskers and a cellulose matrix regenerated from alkali/urea solution. *Biomacromolecules*, 10(6), 1597-1602.
35. Rajaie, A., Shokrchizadeh, H. (2018). Investigation of physical and mechanical properties of edible film prepared from opopanax gum (*Commiphora guidottii*). 16 (91), 323-335. (In Persian).
36. Ravanfar, R. Moein, M.R. Niakousari, M. and Tamaddon, A.M. (2018) Extraction and fractionation of anthocyanins from red cabbage: ultrasonic-assisted extraction and conventional percolation method. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12:2271–2277. https://doi.org/10.1007/s11694-018-9844-y
37. Remon, S., Ferrer, A., Marquina, P., Burgos, J., Oria, R., (2000). Use of modified atmospheres to prolong the postharvest life of Burlat cherries at two different degrees of ripeness. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(10,) 1545 – 1552. https://doi.org/10.1002/1097-0010(200008)80:10<1545::AID-JSFA680>3.0.CO;2-X
38. Rezaei, A., Rezaei, M., Alboofetileh, M. (2021). Preparation of biodegradable carboxymethyl cellulose-Arabic gum composite film and evaluation of the physical, mechanical and thermal properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 17 (2). 287-297. (In Persian).
39. Sajjadi, S. E. (2006). Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. DARU *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(3), 128-130.
40. Sothornvit, R., Krochta, J.M. (2005). Plasticizers in edible films and coating. In innovations in food packaging. 403-433. https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50055-3
41. Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., Bigger, S.W. (2003). Active packaging technologies with emphasis on antimicrobial packaging and its applications, *Journal of Food Science*, 68: 408-420. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05687.x
42. Tilebeni, H. G. (2011). Review to basil medicinal plant. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 2(1), 5-9.
43. Tsai, P. J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B., & Jordan, B. R. (2002). Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. Food research international, 35(4), 351-356. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00129-6
44. Xu, T., Gao, C., Yang, Y., Shen, X., Huang, M., Liu, S., & Tang, X. (2018). Retention and release properties of cinnamon essential oil in antimicrobial films based on chitosan and gum arabic. *Food Hydrocolloids*, 84, 84-92. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.06.003
45. Yong, H., Wang, X., Bai, R., Miao, Z., Zhang, X., & Liu, J. (2019). Development of antioxidant and intelligent pH-sensing packaging films by incorporating purple-fleshed sweet potato extract into chitosan matrix. *Food hydrocolloids*, 90, 216-224. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.015
46. Yoshida, C. M., Maciel, V. B. V., Mendonça, M. E. D., & Franco, T. T. (2014). Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. LWT-food science and technology, 55(1), 83-89. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.015
47. Zhang, X., Lu, S., & Chen, X. (2014). A visual pH sensing film using natural dyes from Bauhinia blakeana Dunn. Sensors and actuators B: *Chemical*, 198, 268-273. https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.02.094